

## El uso de bacterias fijadoras de nitrógeno en Agricultura Ecológica

Una alternativa a la fertilización nitrogenada inorgánica

T. Hernández\*  
C. García\*  
J. A. Pascual\*  
M<sup>a</sup> M. Hernández\*\*

### Introducción

La "biofertilización nitrogenada" constituye una interesante alternativa al empleo de los fertilizantes minerales tradicionales en una agricultura moderna como es la agricultura ecológica. Con el uso en suelos agrícolas de bacterias capaces de fijar un nutriente tan esencial como el nitrógeno se conseguirá, por una parte, disminuir los aportes nitrogenados inorgánicos, y por otra, colaborar en la obtención de metodologías no contaminantes y adecuadas desde un punto de vista medioambiental.

El empleo de bacterias fijadoras de nitrógeno representa una gran oportunidad para la agricultura ecológica ya que mientras que el nitrógeno fijado en el suelo por las bacterias se encuentra disponible directamente justo en el lugar (rizosfera) donde es requerido, los fertilizantes inorgánicos aplicados al suelo sufren una pérdida de hasta el 50% debido a procesos naturales de lixiviación y desnitrificación. Además, la excesiva lixiviación de los fertilizantes inorgánicos puede dar lugar a la contaminación de las aguas subterráneas, ríos y lagos causando daños ecológicos, y puede constituir un riesgo para la salud animal y humana.

Las bacterias fijadoras de nitrógeno de los géneros *Azotobacter*, *Rhizobium* y *Azospirillum* han sido las más empleadas en agricultura como biofertilizantes. Los mecanismos mediante los que estas



bacterias ejercen estos efectos son variados. Así, pueden fijar nitrógeno atmosférico y suministrarlo a la planta; pueden sintetizar diferentes fitohormonas que actúan mejorando diferentes estadios del crecimiento vegetal; solubilizar minerales de fósforo poniéndolo a disposición de la planta, y sintetizar diversos compuestos de bajo peso molecular o enzimas que intervienen en el crecimiento y desarrollo vegetal. Una determinada bacteria puede afectar al desarrollo de la planta mediante uno o más de estos mecanismos.

Ocón y Labandera-González (1994) han indicado que *Azospirillum* estimula la densidad y longitud de los pelos radiculares, así como el crecimiento de raíces secundarias y la superficie radicular. La intensidad de estos efectos sobre la raíz depende de la especie vegetal y del cultivar empleado, y sobre todo de la concentración de *Azospirillum* en el medio. En la mayoría de los casos la concentración óptima es de  $10^7$  UFC

por semilla o plántula. Este microorganismo influye en la concentración de ácido indol acético y ácido indol-3-butírico así como en la velocidad de la respiración específica y en la actividad de enzimas relacionados con el ciclo de ácidos tricarbónicos, y también en la ruta de la glicólisis en las raíces de maíz y de otras plantas.

Diferentes ensayos de inoculación de cereales y cultivos de forraje con microorganismos fijadores de nitrógeno realizados en campo han mostrado resultados muy dispares en cuanto a rendimientos. Esto es debido a la multiplicidad de factores que pueden intervenir afectando al rendimiento: aporte a la planta del nitrógeno fijado, especificidad y adaptación de las bacterias fijadoras de nitrógeno al habitat de la raíz, influencia de los metabolitos microbianos, mejora de la micorrización, desplazamiento de la rizosfera de otros microorganismos perjudiciales para la planta, diferencias en los genotipos de la planta huésped, capacidad de los microorganismos inoculados para sobrevivir en el medio, etc.

\* Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CSIC). Murcia.

\*\* AGRIMOR

Si bien se ha establecido que el rendimiento obtenido en cultivos de cereal depende de la cantidad de N aplicada, la bibliografía existente al respecto pone de relieve que las respuestas observadas en distintos experimentos de crecimiento de cereal inoculado con bacterias fijadoras de nitrógeno, en los que se emplearon varias dosis de N fertilizante, fueron muy diferentes. Así, de 15 experimentos, ocho mostraron un incremento en la producción de

tancias estimuladoras del crecimiento de tipo fitohormonal, a la estimulación de micorrización etc. Quizás, lo más lógico sería pensar que los efectos apreciados pueden ser debidos a una combinación de los citados factores, y no a uno de ellos en particular.

A la vista de todo esto, parece evidente que es difícil generalizar sobre el efecto de las bacterias fijadoras de nitrógeno en el rendimiento de los cultivos, siendo ne-

## La "biofertilización nitrogenada" constituye una interesante alternativa al empleo de los fertilizantes minerales tradicionales

grano con el incremento de la dosis de N y siete mostraron una disminución. Además, la respuesta de los rendimientos de grano y paja mostraba en algunos casos tendencias opuestas (Jagnow, 1987). Igualmente, de seis experimentos realizados con cultivos de plantas de forraje inoculadas con *Azospirillum Brasilense*, tres mostraron una disminución del rendimiento con el aumento de la dosis de nitrógeno fertilizante, dos, un aumento, y uno no experimentó cambio alguno. Por otra parte, también se ha observado que la respuesta a los tratamientos también difiere de gran forma en función de los diferentes cultivos empleados y del tipo de planta (Albrecht et al., 1981).

Ya que la fijación de nitrógeno por las bacterias se ve reprimida con el incremento de la cantidad de nitrógeno, puede descartarse la fijación de nitrógeno como la causa de los incrementos de rendimiento con el aumento de la fertilización nitrogenada, siendo más lógico atribuir este incremento a otros factores tales como la formación de sus-

cesario experimentar con los cultivos y en las condiciones en que se vayan a aplicar, ya que los resultados obtenidos variarán, como hemos visto, en función de numerosos factores: dosis y cepa de microorganismo empleadas, tipo de cultivo, tipo de suelo, fertilización nitrogenada, condiciones ambientales etc. Por ello, planteamos una experimentación a fin de establecer la eficacia de un producto biofertilizante comercial "AZOBAC", compuesto de una mezcla de *Azotobacter* y *Azospirillum*, ( $10^8$  UFC/ ml), como sustitutivo parcial de la fertilización nitrogenada inorgánica en el desarrollo de un cultivo de césped.

## Cultivo de césped

En un suelo agrícola representativo de los suelos agrícolas del sudeste español se establecieron una serie de parcelas que fueron sometidas a diferentes tratamientos. Con el producto Azobac y con fertilización nitrogenada inorgánica todos los tratamientos se realizaron por triplicado y fueron distribuidos al azar, con la finalidad de someter los resultados al correspondiente análisis estadístico.

La fertilización de las parcelas se estableció sobre la base de la fertilización aconsejada en programas estándar para el cultivo extensivo de césped, consistente en añadir dos veces al año 400kg/ha de un abono de equilibrio 16-5-12, lo que equivale a 64kg/ha de nitrógeno, 20 kg/ha de  $P_2O_5$  y 48 kg/ha de  $K_2O$ .

A todas las parcelas se añadió la cantidad de fósforo y potasio establecida por la fertilización estándar, sin embargo, mientras que unas parcelas recibieron la cantidad estándar de nitrógeno, otras sólo recibieron 1/2 ó 3/4 de esta cantidad. Los tratamientos establecidos fueron los siguientes:

- Parcelas control sin inóculo y 1/2 de la fertilización nitrogenada estándar (32 kg N/ha).
- Parcelas control sin inóculo y 3/4 de la fertilización nitrogenada estándar (48 kg N/ha)
- Parcelas control sin inóculo y fertilización nitrogenada estándar (64 kg N/ha)
- Parcelas con inóculo (15 L de Azobac/ ha) y 1/2 de la fertilización nitrogenada estándar
- Parcelas con inóculo (15 L de Azobac/ ha) y 3/4 de la fertilización nitrogenada estándar

Las parcelas se sembraron con semillas de ryegrass (*Lolium perenne*), a razón de 500 kg/ha, realizándose la adición del inóculo (15 L de Azobac/ha) y la fertilización inorgánica cinco días después de la siembra, cuando las semillas ya habían



Detalle del cultivo de césped



# agricultura ecológica

germinado. A los dos meses de la primera adición de inóculo (diez días después del primer corte) se volvió a añadir Azobac (15L/ha) y fertilizante inorgánico, así como después del segundo corte. El césped se cortó a los 55, 103 y 160 días de la siembra determinándose el peso fresco y seco a 60 °C del material vegetal obtenido en cada una de las parcelas, y las cantidades totales de nitrógeno, fósforo y potasio absorbidos por la planta.

La **Figura 1** muestra los valores medios de rendimiento (t/ha) obtenidos para los distintos tratamientos en cada uno de los tres cortes realizados y la **Figura 2**, el rendimiento total obtenido en el conjunto de los tres cortes.

Como puede observarse, cuando la fertilización nitrogenada realizada se corresponde con una dosis equivalente al 50 % (32 kg/ha de N) de la fertilización estándar habitual para el cultivo de césped, el tratamiento con Azobac en dosis de 15 L/ha producía un incremento del rendimiento con respecto al obtenido con el tratamiento control sin inocular, siendo este aumento particularmente notorio en los dos primeros cortes en los que este incremento representaba el 69 y 57%, respectivamente. Considerando el rendimiento total obtenido en el conjunto de los tres cortes realizados, la inoculación con Azobac producía un aumento del rendimiento del 28 % (peso fresco).

Si comparamos los rendimientos medios, tanto parciales (Fig. 1) como globales (Fig. 2), obtenidos en estas parcelas tratadas con Azobac y fertilizadas con sólo 32 kg/ha N, con los obtenidos en las parcelas que han recibido una fertilización nitrogenada estándar (64 kg/ha de N) observamos que estos rendimientos

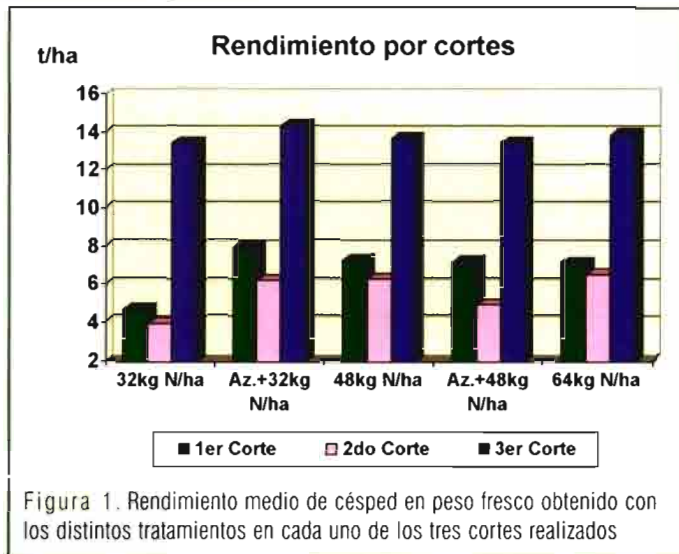


Figura 1. Rendimiento medio de césped en peso fresco obtenido con los distintos tratamientos en cada uno de los tres cortes realizados

son similares en todos los casos, no existiendo diferencias significativas en cuanto a los rendimientos obtenidos con estos dos tratamientos. Este hecho es de gran interés ya que supone que el tratamiento con Azobac permite un desarrollo normal del cultivo de césped con un ahorro del 50 % en fertilización nitrogenada.

Sin embargo, el tratamiento con Azobac resulta inefectivo cuando en el suelo existe una cantidad de nitrógeno suficientemente elevada, no observándose diferencias entre los suelos tratados y el control cuando la fertilización nitrogenada es 3/4 de la estándar (48 kg N/ha). Este hecho podría deberse a que en estas condiciones de mayor contenido de N en el suelo, la fijación de nitrógeno por las bacterias inoculadas se ve reprimida; también es posible que el desarrollo de las poblaciones microbianas autóctonas del suelo se vea estimulado por la mayor fertilización nitrogenada,

entrando en competencia con las poblaciones inoculadas.

En coincidencia con estos resultados, Galal et al. (2000) observaron que el rendimiento tanto de grano como de paja de plantas de maíz incrementaba de modo estadísticamente significativo con la inoculación con *Azotobacter brasilense* tanto en ausencia de fertilización nitrogenada como cuando la fertilización era 1/4 o 1/2 de la dosis estándar, obteniéndose

los mayores valores con la combinación del inóculo y 1/2 de la dosis de N. Cuando se aplicaba la dosis estándar de nitrógeno no se observaba respuesta alguna a la inoculación.

Los mayores rendimientos observados en las parcelas tratadas con inóculo (Azobac) y 1/2 de la dosis de N correspondiente a la fertilización estándar podría atribuirse a la fijación de nitrógeno. Si embargo, numerosos investigadores afirman que el nitrógeno fijado por las bacterias inoculadas, sólo cubre una mínima parte de las necesidades de la planta (Jagnow, 1985).

Todos estos datos sugieren la posibilidad de que la mejora de rendimiento observada, no sea debida (al menos no en su totalidad) a la fijación de nitrógeno sino a factores de otro tipo, particularmente a la producción de sustancias estimuladoras del crecimiento, ya que, se observó que las bacterias contenidas en el producto Azobac producían efectos fitohormonales de tipo auxina.

En este sentido, Okon, (1984) observó que las plantas inoculadas con *Azospirillum* mostraban mayor número de pelos radicales y de raíces secundarias Autores como Horreman y Vlassak (1985) y Kolb y Martin (1985) observaron la producción de ácido indol acético (IAA) por *Azospirillum brasilense*, observándose también la producción, aunque en menor cantidad, de ácido abscísico y citoquininas (Tien et

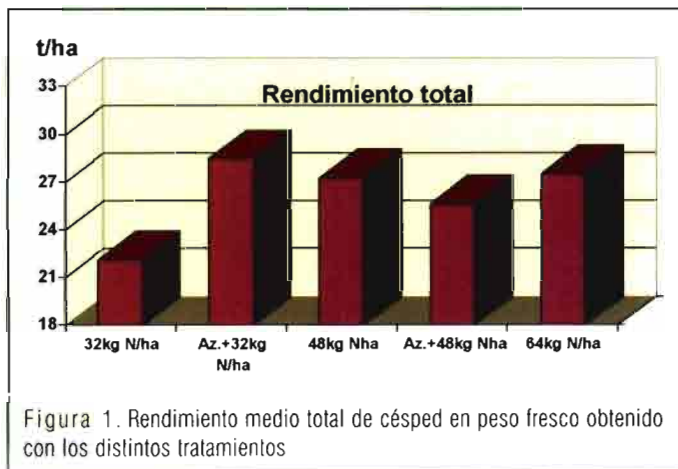


Figura 1. Rendimiento medio total de césped en peso fresco obtenido con los distintos tratamientos

al., 1979; Umali-García et al., 1980; Inbal and Fedman, 1982).

Los contenidos de nutrientes en planta, % de N, P y K, eran similares en los diferentes tratamientos, siendo estas concentraciones las normales para este tipo de planta; la inoculación, por tanto, no produce alteraciones o desequilibrios en el contenido nutritivo del vegetal.

Sin embargo, si consideramos la cantidad total de nitrógeno extraída del suelo por la cosecha durante todo el periodo de cultivo (Figura 3), observamos que la cantidad total de nitrógeno absorbida por la cosecha en el tratamiento de inóculo más 1/2 de la dosis estandar de nitrógeno (inóculo+32 kg N/ha) era igual a la extraída del suelo fertilizado con 64 kg N/ha, y muy superior a la extraída por las plantas crecidas en el suelo con igual fertilización nitrogenada (32 kg N/ha) pero que no ha recibido inóculo.



Detalle de la distribución de las parcelas de césped

Este hecho es particularmente interesante dentro de una Agricultura Ecológica, y para el desarrollo de cultivos en zonas vulnerables a la contaminación por nitratos, en las cuales, la cantidad de fertilizante nitrogenado a aplicar anualmente está limitada, abriéndose

así un amplio campo para la utilización de este producto.

Cuando hay suficiente nitrógeno en el medio, no se observan diferencias de rendimiento entre las parcelas inoculadas y las controladas. Lo cual, es posiblemente debido a que los microorganismos utilizan este nitrógeno

no y no precisan fijar el nitrógeno atmosférico, o bien, lo hacen en menor grado.

El empleo en el suelo de Biofertilizantes como el aquí ensayado, constituye una solución de futuro dentro de una Agricultura Biológica y Sostenible. No consideramos que los efectos positivos que se han apreciado con su empleo sean fruto de un factor concreto sino de la combinación de diversos factores (efecto fitohormonal, fijación de nitrógeno, mejora de la asimilación de nutrientes, etc.). El empleo de productos de

este tipo es particularmente recomendable en suelos pobres, con baja actividad microbiana, ya que en ellos la competencia entre los microorganismos autóctonos del suelo y los inoculados será menor.

### Bibliografía

- Albrecht, S.L., Okon, Y., Lonquist, J., Burris, R.H. 1981. *Crop Sci.* 21: 301-306
- Galal, Y.G.M., El-Ghandour, S.S. Aly, I.A., Soliman S. Gadalla, G. 2000. *Biol. Fert. Soils.* 32: 47-51
- Gallaher, R. N., Quesenberry, K.H. 1979. *Crop Sci.* 19: 12-16.
- Horemans, S., y Vlassak, K. 1985. In Klingmüller, W. (ed). *Azospirillum III*, Springer-Verlag, Berlin, 98-108.
- Inbal, E., Fedman, M. 1982. *Israel J. Botany* 31: 257-263.
- Jagnow, G. 1985. *Mitt. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch.* 43/11: 575-579.
- Jagnow, G. 1987. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk* 150: 361-368.
- Kolb, W., Martin, P. 1985. In Klingmüller, W. (ed). *Azospirillum III*, Springer-Verlag, Berlin, 203-214.
- Okon, Y. 1984. In C. Veeger and W. E. Newton (eds): *Advances in Nitrogen Fixation Research*. Martinus Nijhoff, The Hague, Dr. W. Junk, Wageningen 303-309.
- Okon, Y., Labandera-Gonzalez, C.A. 1994. *Soil Biol. Biochem.* 26: 1591-1601.
- Tien, T. M. Gaskins, M.H., Hubbell, D.M. 1979. *Appl. Environm. Microbiol.* 37: 219-226.
- Umali-García, M., Hubbell, D.M., Gaskins, M.H, Dazzo, F. B. 1980. *Appl. Environm. Microbiol.* 39: 219-226.

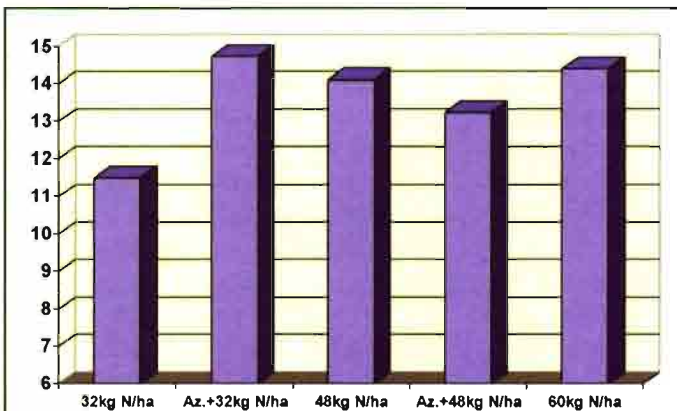


Figura 3. Cantidad total de N, en términos absolutos, extraída por la cosecha (tres cortes) con cada uno de los tratamientos (gramos/m<sup>2</sup>)

### Conclusiones

En este experimento, se ha puesto de relieve que la inoculación del suelo con Azobac a dosis de 15 L/ha durante un cultivo de césped junto con una fertilización baja de nitrógeno, incrementa los rendimientos obtenidos con relación a los tratamientos no inoculados. La inoculación con estas bacterias fijadoras de nitrógeno (*Azotobacter* + *Azospirillum*) en las condiciones experimentales permite obtener los mismos rendimientos reduciendo en un 50% la fertilización nitrogenada aplicada, con la gran ventaja medioambiental que esto supone.